



**Fisher**  
**Bioblock Scientific**

Parc d'innovation - BP 50111 - F67403 illkirch cedex

**France**

tél 03 88 67 14 14  
fax 03 88 67 11 68  
email [infos@bioblock.fr](mailto:infos@bioblock.fr)  
[www.bioblock.com](http://www.bioblock.com)

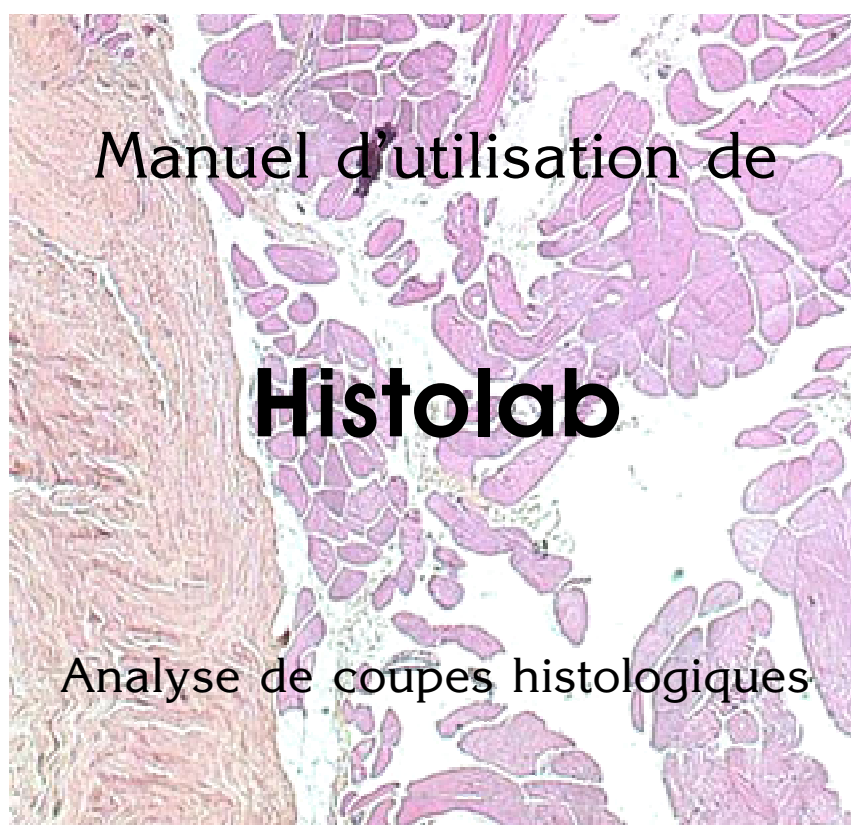
**Belgique / België**

tél 056 260 260  
fax 056 260 270  
email [belgium@bioblock.com](mailto:belgium@bioblock.com)  
[www.bioblock.be](http://www.bioblock.be)

**España**

tfno 91 515 92 34  
fax 91 515 92 35  
email [ventas@bioblock.com](mailto:ventas@bioblock.com)  
[www.es.fishersci.com](http://www.es.fishersci.com)

# Mode d'emploi



Manuel d'utilisation de

# Histolab

Analyse de coupes histologiques

MICROVISION Instruments  
CE 1750 - Petite Montagne Sud  
8, rue du Forez - 91047 Evry - France  
Tél : (33) (0) 1 69 11 15 50  
Fax : (33) (0) 1 69 11 15 51  
eMail : [info@microvision.fr](mailto:info@microvision.fr)  
S.A. au capital de 135 000 euros  
R.C.S. Corbeil - Essonnes : B 388 570 046

10<sup>e</sup> édition

Histolab 5.8

janvier 2004



# Sommaire

<b>1. Vue d'ensemble d'Histolab</b>	<b>5</b>
Démarrage d'Histolab	6
La feuille de travail d'Histolab	6
Les menus	7
La barre d'outils	8
Les onglets, les pages et les documents	9
La barre d'état	9
Déroulement d'une session de travail	10
Préparation de l'appareil	10
Préparation de l'étude	10
L'analyse de la lame	10
Exploitation des résultats	11
Protection des réglages	11
<b>2. Préparation de l'appareil</b>	<b>12</b>
Acquisition de l'image	12
Accès au contrôleur de platines	13
Etalonnage du système	13
Réglage de l'autofocus	13
<b>3. Préparation de l'étude</b>	<b>15</b>
Définition de l'étude	15
Réglage de la détection des structures	16
Détection automatique	17
Réglage du seuillage fixe pour une image couleur	18
Réglage du seuillage fixe pour une image monochrome	18
Réglage du seuillage adaptatif	19
Réglage du lissage	20
Définition d'une macro	20
Choix de la séparation	21
Réglage du critère	21
Application d'une mire permanente	22
Définition de l'exploration	22
Enregistrement d'une étude	23
Modèles et fichiers enregistrés	24
<b>4. Analyse d'une lame</b>	<b>25</b>
Prévisualisation de la lame avec une platine motorisée	25
Tracé d'une zone de référence	25
Repositionnement d'un échantillon	26
Sélection de la structure	27

# Sommaire

Utilisation des outils de mesure	27
La mesure d'intensité	29
Contrôle des mesures	29
Correction des erreurs	30
Valider un champ mesuré	30
Mesure automatique de l'échantillon avec une platine motorisée	30
<b>5. Vue d'ensemble de la coupe</b>	<b>31</b>
Exportation	32
<b>6. Tableau des mesures</b>	<b>33</b>
Organisation du tableau	34
Choix des mesures affichées	34
Regroupement des objets	35
Intensité exprimée	35
Exportation	35
<b>7. Statistiques et représentation graphique</b>	<b>37</b>
Les statistiques	38
La table de comptage	38
L'histogramme d'une mesure	38
Exportation	39
<b>8. Mise en page et impression du rapport</b>	<b>41</b>
Exportation au format PDF	43
<b>9. Modes de fonctionnement sécurisés</b>	<b>45</b>

# 1. Vue d'ensemble d'Histolab

Histolab a été conçu pour prendre plusieurs types de mesures sur des tissus histologiques très variés. Il propose pour cela de riches fonctionnalités de traitement d'image, et de nombreux outils de mesure, interactifs et puissants. Un grand soin a été apporté à la simplicité et au confort d'utilisation, ainsi qu'à la production de documents directement utilisables : annotation des images, impression des images et des résultats, archivage sous forme de fichiers exploitables par d'autres logiciels.

Histolab prévoit l'accumulation de mesures sur un nombre illimité de champs. Il permet d'analyser plusieurs types de structures simultanément. Des statistiques concernant chaque type de structure sont proposées en permanence.

Les mesures proposées sont les suivantes : abscisse et ordonnée du centre, longueur, largeur, diamètre, périmètre, surface et intensité lumineuse. Les résultats sont tous exprimés en unités réelles, soit dans un tableau complet, soit résumés par des valeurs statistiques.

Histolab propose à l'utilisateur une palette d'outils de mesure, et s'adapte ainsi à tout type de coupe histologique. Certains outils sont automatiques, c'est-à-dire qu'après avoir été réglés, ils mesurent une structure sur tout le (ou partie du) champ affiché dans la fenêtre vidéo. D'autres outils sont des outils de tracé purs, notamment pour effectuer des comptages, ou des mesures d'épaisseurs, ou encore dans les cas où les colorations de la coupe ne sont pas assez homogènes pour être détectées sur des critères de teinte.

Enfin, tout est mis en œuvre pour que l'utilisateur puisse exploiter les résultats fournis par Histolab de la façon la plus souple possible : une session de travail peut être enregistrée, et reprise ultérieurement. Les résultats, statistiques et comptages peuvent être exportés vers les logiciels de calcul usuels, soit dans des fichiers compatibles, soit simplement par copier / coller. Enfin, images, liste des valeurs et statistiques sont éditées sur imprimante.

## Démarrage d'Histolab

Un raccourci vers Histolab est normalement accessible dans le groupe de programmes "Microvision Instruments", situé dans le menu "Programmes" du menu "Démarrer" de Windows.

## La feuille de travail d'Histolab

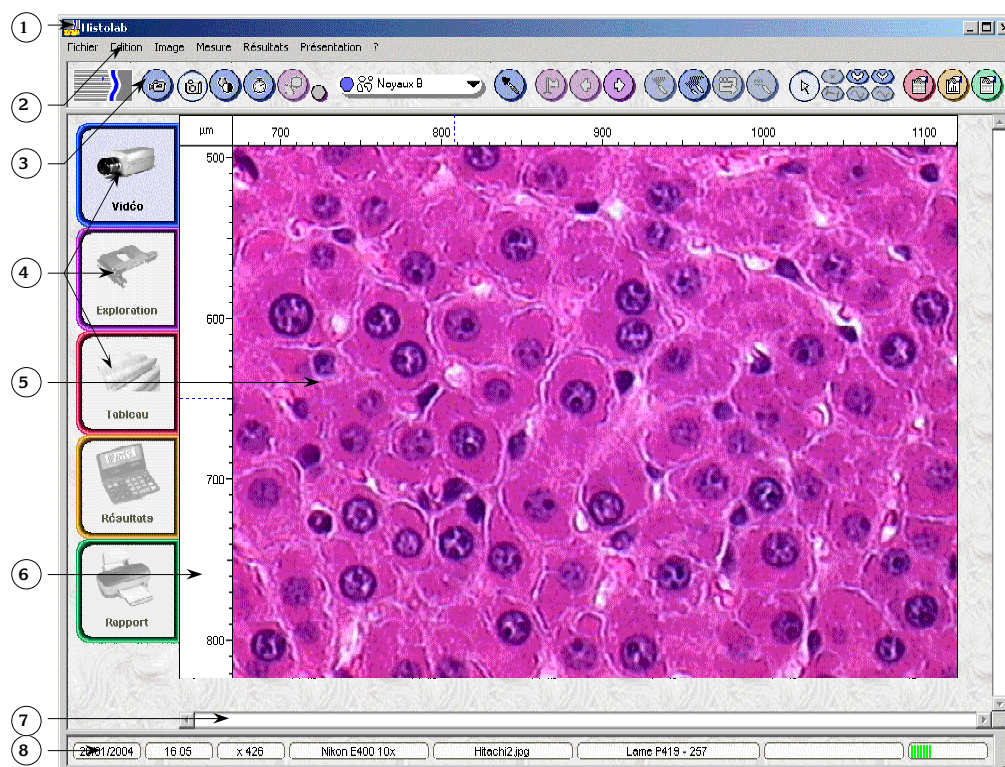
La feuille de travail est la fenêtre affichée lors du démarrage d'Histolab. On y trouve les éléments standard de l'environnement Windows : la barre de titre (1) qui inclut la case de menu système (à gauche), et les cases d'agrandissement et de réduction de la fenêtre (à droite); la barre de menus (2) donne accès à toutes les fonctions du logiciel. Lorsque la feuille n'occupe pas tout l'écran, elle peut être déplacée (en cliquant dans la barre de titre), ou déformée (en cliquant dans son cadre).

La barre d'outils (3) contient quelques boutons pour accéder rapidement aux fonctions les plus utilisées du logiciel.

A gauche de la feuille, des onglets (4) permettent d'afficher soit l'image vidéo, soit différents documents représentatifs du travail en cours : une cartographie ou un historique des champs mesurés, le tableau des mesures, une représentation graphique et des tableaux statistiques, le rapport imprimé.

L'image vidéo ou le document occupent la plus grande partie de la feuille (5). Ils sont entourés de règles (6), graduées en unités réelles, et de barres de défilement (7), actives lorsque le document ou l'image sont plus grands que la fenêtre.

Dans le bas de la feuille de travail, la barre d'état (8) contient des informations relatives au travail en cours.



*La feuille de travail d'Histolab*

## Les menus

Ils donnent accès à toutes les fonctions d'Histolab. En voici un bref aperçu :

- le menu “Fichier” est consacré aux études : début d’une étude, et définition de ses principales caractéristiques; enregistrement de l’étude; exportation et impression des résultats. Il permet également d’archiver, de charger ou d’imprimer des images.
- le menu “Edition” propose les fonctions classiques de “copier / coller”, qui permettent d’échanger des images ou des documents entre plusieurs logiciels. On y trouve également l’annulation d’une action, et l’accès au module d’annotation des images.
- le menu “Image” est consacré à la gestion de la vidéo : acquisition, mémorisation et amélioration des images.
- le menu “Mesure” regroupe les fonctions utilisées pendant une étude : étalonnage du système, caractéristiques de l’étude, choix des structures et outils de mesures.
- le menu “Résultats” concerne les documents présentés dans les pages “Tableau”, “Résultats” et “Rapport”. On y trouve l’accès à des boîtes de dialogue pour définir le contenu de ces documents, et des articles permettant d’afficher certains d’entre eux dans des fenêtres toujours visibles.

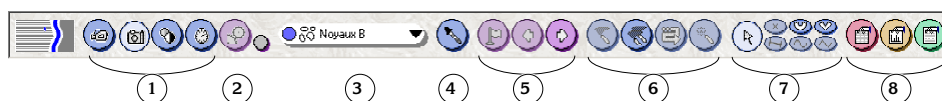


- le menu “Présentation” contient diverses options plus générales : personnalisation de l’environnement et options de tracés des mesures.
- menu “?” : informations sur le logiciel Histolab et modes de fonctionnement sécurisés.

Les fonctionnalités proposées par ces menus sont décrites en détail dans le “Manuel de référence”.

## La barre d’outils

La barre d’outils offre un accès rapide à certaines fonctions et informations utilisées fréquemment :



*La barre d’outils d’Histolab*

1. Fonctions vidéo d’usage courant (de gauche à droite) : “Acquisition”, “Figer l’image”, “Contraste automatique”, “Intégration d’images”.
2. Activation / désactivation du suivi des positions, lorsque le système est équipé d’une platine de déplacement indexée ou motorisée.
3. Nom de la structure en cours de mesure. C’est un menu local : un clic fait apparaître la liste des structures définies, et permet de changer de structure.
4. Réglage de la détection de la structure sélectionnée.
5. Passage de champ en champ :  

Avec une platine motorisée, tous les boutons sont actifs. Les boutons de déplacement pilotent la platine, le bouton de gauche permet de définir une position initiale.

Avec une platine de déplacement indexée, les boutons sont inactifs : les changements de champ se font en déplaçant la platine.

Avec un système manuel, les boutons de déplacement entre les champs sont actifs, et permettent d’afficher les mesures déjà effectuées.
6. Mesure d’une structure / mesure de toutes les structures / mesure de l’échantillon (systèmes motorisés) / mesure d’une structure dans une zone de l’image vidéo.
7. Outils de mesure interactifs (de gauche à droite) : sélection d’objets, comptage, tracé d’un contour, tracé d’un polygone, tracé d’un segment, tracé d’une ligne courbe, tracé d’une ligne brisée. Les outils sont validés selon le type de structure sélectionnée.
8. Réglage des propriétés des documents affichés : mesures affichées dans les tableaux, définition du graphique, mise en page du rapport.

## Les onglets, les pages et les documents

Les onglets situés à gauche de la fenêtre permettent d'afficher cinq pages représentatives de l'étude en cours :

- L'image vidéo temps réel est bien sûr la page la plus importante, qui permet d'observer l'échantillon et d'y effectuer les mesures.

L'image vidéo, et les tracés éventuellement superposés peut être enregistrée, ou imprimée, par les options correspondantes du menu "Fichier". Une partie de l'image peut être encadrée, puis, par l'option "Copier" du menu "Edition", transférée vers un autre logiciel.

- La page "Exploration" présente un historique des champs mesurés : tous les objets tracés sont représentés, superposés à l'image présente sous la caméra au moment de la mesure.

Lorsque le système est équipé d'une platine de déplacement indexée ou motorisée, l'historique est remplacé par une cartographie de l'échantillon, dans laquelle les images et les mesures sont tracées à leur position réelle.

La vue d'ensemble (historique ou cartographie) peut également être affichée dans une fenêtre distincte, et incluse dans le rapport imprimé. Une partie de la vue d'ensemble peut être encadrée, copiée, puis transférée vers un autre logiciel.

- Le "Tableau" présente tous les objets tracés durant l'étude (un par ligne), et pour chacun d'eux un certain nombre de mesures choisies par l'opérateur.

Le tableau des mesures peut être inséré dans le rapport. Une partie du tableau peut être sélectionnée, copiée, et transférée vers un tableur.

- La page "Résultats" permet d'afficher quatre documents distincts : les valeurs statistiques calculées dans chaque structure, la table de comptage, un histogramme de répartition sous forme graphique et en tableau.

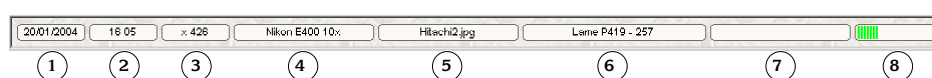
Ces quatre documents peuvent être individuellement affichés dans une fenêtre distincte, inclus dans le rapport, ou copiés vers un logiciel extérieur.

- Le "Rapport" est une reproduction fidèle du document susceptible d'être imprimé. Il suit en permanence les évolutions du travail en cours.

La mise en page du rapport est personnalisable : taille et contenu de l'en-tête et du pied de page, intitulé et ordre des documents imprimés.

## La barre d'état

La barre d'état est située tout en bas de la feuille. Elle regroupe quelques informations concernant le travail en cours :



*La barre d'état d'Histolab*

1. Date du système.
2. Heure du système.
3. Grandissement dans lequel est affiché l'image vidéo ou la vue d'ensemble.
4. Nom de l'étalonnage actuellement appliqué.
5. Nom du fichier image éventuellement chargé.
6. Référence de l'échantillon en cours d'analyse (ou nom du fichier "étude", dans lequel sont enregistrées les mesures)
7. Position du réticule, lorsque l'on clique dans une des règles graduées. Lorsque l'on utilise l'outil d'encadrement, la taille de la zone sélectionnée est affichée ici.
8. Indicateur d'occupation de la mémoire du micro-ordinateur.

## **Déroulement d'une session de travail**

### **Préparation de l'appareil**

Lors de cette étape, on règle essentiellement :

- l'acquisition de l'image vidéo et son cadrage : en s'aidant des options du menu "Image", on cherche à obtenir l'image à l'écran, suffisamment contrastée.
- l'étalonnage du système, opération qui consiste à établir l'équivalence entre une distance réelle et sa longueur apparente à l'écran.

La préparation de l'appareil est présentée au chapitre 2. De nombreux aspects sont détaillés dans le manuel de référence (l'acquisition vidéo au chapitre 4, l'étalonnage au chapitre 5).

### **Préparation de l'étude**

La préparation de l'étude consiste à indiquer au logiciel le nombre et le nom des structures à mesurer, ainsi que quelques caractéristiques de l'échantillon à analyser, et, si le système est équipé d'une platine motorisée, la forme et la taille de la zone à explorer.

Ensuite, on règle la "détection" de chaque structure, c'est à dire l'ensemble des traitements d'image qui conduiront l'appareil à détecter la structure dans l'image vidéo. Les traitements programmés sont résumés dans une palette, que l'on affiche par le menu "Mesure".

Ces opérations sont décrites au chapitre 3.

### **L'analyse de la lame**

L'analyse peut être entièrement automatique, si le système est équipé d'une platine motorisée et si la préparation de la lame est assez homogène pour que les réglages effectués puissent s'appliquer d'un bout à l'autre de l'échantillon. Dans le cas contraire, l'analyse est semi-

automatique : après avoir positionné la platine du microscope de manière à ce que la zone d'intérêt soit affichée dans l'image vidéo, l'opérateur doit sélectionner la structure qu'il veut analyser puis un outil de mesure.

Le chapitre 4 est consacré à la prise des mesures, tant par les outils de tracé manuels que par les outils de mesure automatiques.

Le chapitre 5 présente la page "Exploration", où s'affiche la cartographie de la coupe, ou l'historique des mesures effectuées.

### **Exploitation des résultats**

Cette étape finale consiste à définir la présentation des tableaux et graphiques proposés, ainsi que la mise en page du rapport de mesure.

Ces fonctions sont décrites aux chapitres 6 à 8.

### **Protection des réglages**

Les réglages effectués lors des deux premières étapes sont fondamentaux, et déterminent la validité des résultats des mesures. Il est possible de restreindre l'accès à ces réglages, en plaçant le logiciel dans un mode de fonctionnement sécurisé.

Les modes sécurisés sont décrits au chapitre 9.

## 2. Préparation de l'appareil

### Acquisition de l'image

La première étape consiste à acquérir l'image du champ à mesurer. Elle est stockée dans la mémoire d'image, et une partie est affichée dans la feuille de travail.



L'acquisition temps réel s'active par ce bouton, ou par l'option "Nouvelle image".



Ce bouton applique une amélioration automatique du contraste de l'image



Il peut être utile de figer l'image par ce bouton, ou par l'option "Figer l'image".



L'acquisition par intégration est utilisée lorsque l'intensité lumineuse est très faible : l'image est acquise par une caméra spéciale, dite "à intégration". Le réglage de l'intégration d'image s'effectue par l'article correspondant du menu 'Image'.

Lors d'une étude, l'acquisition de l'image est répétée à chaque champ analysé. Les techniques évoquées ici sont détaillées au chapitre 4 du manuel de référence.

## Accès au contrôleur de platines

Si une platine de déplacement indexée ou motorisée est installée, elle est contrôlée par un logiciel indépendant. Les réglages nécessaires ont été effectués en atelier, ou lors de la mise en service de l'appareil.

Ce logiciel peut être affiché, via l'article "Afficher le contrôleur de platines" du menu "?" : le bouton strié, en bas et à droite du panneau, donne accès à son menu, et aux réglages matériels; le bouton rouge, en bas à gauche, ferme le panneau, inutile lors de l'utilisation normale d'Histolab.

## Étalonnage du système

Cette étape est fondamentale, car elle conditionne la validité des mesures qui vont être prises. On l'utilise plus ou moins fréquemment, en fonction du système optique :

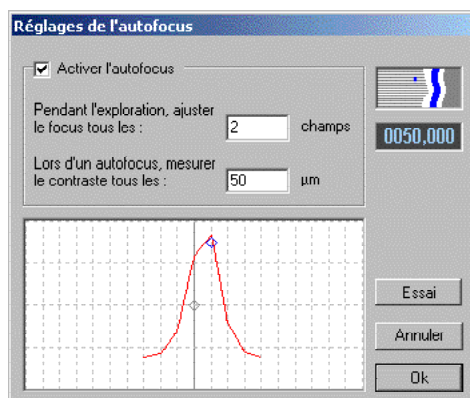
- Si l'on modifie souvent le système optique (grandissement d'un objectif, caméra dont on modifie la position sur la potence), il faut ré-étalonner le système à chaque modification, par l'option "Définir..." du sous-menu "Étalonnage" du menu "Mesure".
- Si l'on dispose d'un système optique avec quelques positions pré-définies (objectifs du microscope par exemple), il suffit d'activer la bonne échelle de distance parmi celles proposées par le sous-menu "Étalonnage" du menu "Mesure".
- Enfin, si l'on utilise un système optique fixe, on pourra se contenter d'une vérification périodique : placer une règle ou un micromètre sous la caméra, et vérifier que ses graduations sont en concordance avec celles d'Histolab.

Pour plus de précisions, se reporter au chapitre 5 du manuel de référence.

## Réglage de l'autofocus

Si les observations sont effectuées avec un microscope, et que celui-ci est équipé d'un axe de mise au point motorisé (système motorisé trois axes), il est possible d'effectuer la focalisation automatiquement pendant les analyses.

Cette opération nécessite un réglage, qui dépend de l'objectif choisi. L'article "Définir l'autofocus..." est proposé dans le menu "Mesure". Il affiche la boîte de dialogue ci-dessous :



*Réglage de l'autofocus*

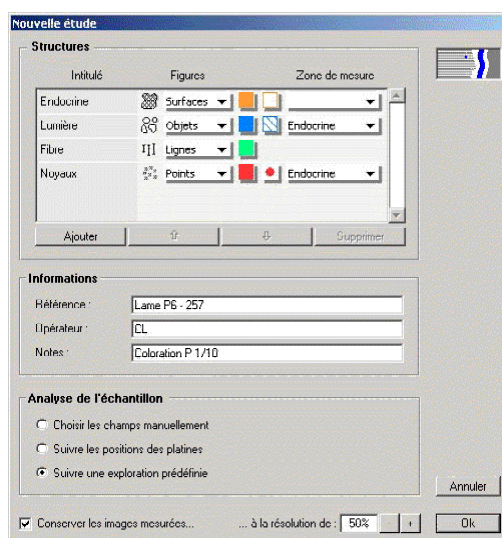
Pour régler l'autofocus :

- entrer dans la seconde zone de texte une distance de l'ordre de grandeur de la profondeur de champ de l'objectif utilisé : elle définit le pas de l'analyse.
- presser le bouton "Essai" : le système déplace l'axe de mise au point, et effectue une mesure à chaque étape. Une courbe est tracée (en rouge), et le système se place à la position correspondant au maximum de cette courbe.
- si la courbe est large et aplatie, la position correcte risque d'être hors de la zone analysée : augmenter le pas de l'analyse.
- si la courbe est trop étroite, le système risque de rater la position correcte : diminuer le pas de l'analyse.

## 3. Préparation de l'étude

### Définition de l'étude

Lors de cette première étape, l'utilisateur définit les structures qu'il souhaite analyser, et documente l'étude qui commence (référence de la coupe, nom de l'opérateur, commentaire). Ceci se fait à l'aide de l'article "Nouvelle étude..." du menu "Fichier".



Les structures servent à regrouper les mesures de façon cohérente, notamment pour les calculs statistiques.



Le nom de chaque structure est indiqué dans la colonne de gauche. On peut le modifier après l'avoir sélectionné partiellement ou totalement.

Chaque structure regroupera un certain nombre de figures, dont le type détermine les mesures prises. Ceci se choisit par le menu local situé au centre de la liste, qui propose :

- des “points”, destinés à effectuer des dénombrements,
- des “lignes”, destinées à mesurer des longueurs ou des épaisseurs,
- des “objets”, destinés à effectuer des mesures géométriques individuelles sur des contours fermés : longueur, largeur, diamètre équivalent, périmètre, surface et intensité lumineuse.
- des “surfaces”, destinées à prendre des mesures globales.

Toutes les figures peuvent être tracées manuellement. Toutes, à l'exception des lignes, peuvent être acquises automatiquement. Seules les structures de type “objets” peuvent servir de mire.

Les structures prises peuvent être restreintes à l'intérieur d'une “zone de référence”, à l'aide du menu local situé à droite de la liste : en l'absence de toute mention, les mesures sont prises sur l'ensemble du champ vidéo. Dans le menu local apparaissent les structures qui peuvent être considérées comme des zones de références (ce sont celles définies par un contour fermé).

Les propriétés graphiques des figures tracées (couleur, style de remplissage des figures fermées, motif des “points”) se définissent en cliquant sur leur symbole : une palette apparaît alors montrant les choix disponibles.

En bas de la fenêtre, la case “Conserver les images mesurées” permet d'associer l'image des champs aux mesures effectuées. Ces images sont notamment affichées dans la vue d'ensemble. Elles sont intégrées au fichier de l'étude.

Remarque : conserver les images en plus des mesures dans le fichier de l'étude augmente considérablement la taille de celui-ci. Afin de limiter cette inflation, il peut être judicieux de diminuer la résolution des images.

## Réglage de la détection des structures



Le réglage de la détection des structures par des outils automatiques est présenté dans une palette, que l'on affiche en pressant ce bouton ou par l'article “Réglage de la détection...” du menu “Mesure”.

On choisit tout d'abord d'appliquer, ou non, une détection automatique (selon que la structure à mesurer a une teinte homogène ou non).

## Détection automatique



*La palette de réglage de la détection*

La détection de structures dans une image se fait en quatre étapes :

- Le seuillage, qui extrait de l'image la phase à mesurer. Il existe deux méthodes :

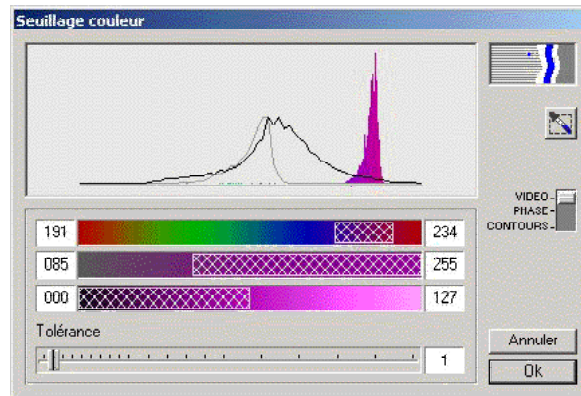
Le seuillage “fixe” consiste à régler manuellement les valeurs de teintes caractérisant les objets. Cette méthode permet une grande précision de la détection, mais exige un éclairage stable et une préparation des échantillons uniforme. Il en existe une version pour les images en couleur, une autre pour celles en noir et blanc.

Le seuillage “adaptatif” permet de détecter les objets dans des champs où l'éclairage n'est pas homogène. Il s'effectue toujours sur une image convertie en niveaux de gris. La détection prend quelques secondes.

- Le filtrage, qui corrige un seuillage imparfait, qui laisse des artefacts ou qui ne détecte pas complètement des objets. Le filtrage peut être soit un simple “lissage” des contours des objets détectés, soit une séquence de traitements personnalisés.
- éventuellement, une séparation des objets détectés (souvent utile pour les “points”, parfois pour les “objets”),
- l'application d'un critère sur les valeurs mesurées (étape facultative également, utile pour les “objets”).

## Réglage du seuillage fixe pour une image couleur

Il se règle avec la boîte de dialogue suivante :



*Réglage des niveaux de seuil pour une image couleur*

Cette fenêtre présente trois histogrammes superposés et les seuils associés :

- un histogramme en couleur des teintes présentes dans l'image; deux seuils définissent quelles teintes seront recherchées dans l'arc-en-ciel
- un histogramme (gris) de la saturation des couleurs de l'image; deux seuils définissent si les couleurs recherchées sont plutôt ternes (à gauche) ou vives (à droite)
- un histogramme (noir) de l'intensité lumineuse de l'image; deux seuils définissent si les couleurs recherchées sont plutôt sombres (à gauche) ou claires (à droite)

Lors d'une analyse automatique du champ vidéo (<F5>), les points de l'image considérés sont ceux dont chacune des composantes (teinte, saturation et intensité) se trouve à l'intérieur de la plage définie. Pour extraire une teinte initiale,



presser sur ce bouton et encadrer la couleur à extraire dans l'image vidéo. Histolab calcule alors la valeur moyenne et l'écart-type de chacune des composantes des points image de la zone désignée et, modulés par la tolérance définie, les seuils bas et haut de détection.

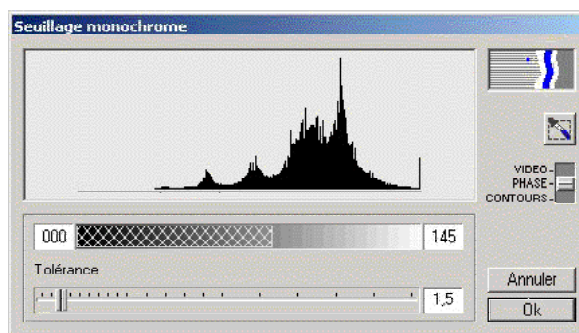
Le résultat de l'opération de seuillage apparaît si l'on clique sur le bouton "Phase" (superposition d'un masque aux parties seuillées de l'image) ou sur le bouton "Contours" (les parties seuillées sont entourées).

Si la détection effectuée n'est pas satisfaisante, il y a plusieurs façons de l'ajuster :

- Si la mesure du champ a "raté" des éléments de la structure en cours d'analyse : augmenter la tolérance; si des éléments ont été indûment affectés à la structure, diminuer la tolérance.
- Si le réglage n'est toujours pas satisfaisant, il est possible de modifier individuellement les seuils haut et bas de chacune des composantes en cliquant dans une des barres colorées jusqu'à amener le seuil à la valeur souhaitée.

## Réglage du seuillage fixe pour une image monochrome

Il se règle avec la boîte de dialogue suivante :



*Réglage des niveaux de seuil pour une image monochrome*

Cette fenêtre présente l'histogramme des niveaux de gris présents dans l'image; deux seuils définissent quelles valeurs seront recherchées.

Lors d'une analyse automatique du champ vidéo (<F5>), les points de l'image considérés sont ceux dont l'intensité lumineuse se trouve à l'intérieur de la plage définie. Pour extraire une plage initiale,



presser sur ce bouton et encadrer l'intensité lumineuse à extraire dans l'image vidéo. Histolab calcule alors la valeur moyenne et l'écart-type de l'intensité dans la zone désignée et, modulés par la tolérance définie, les seuils bas et haut de détection.

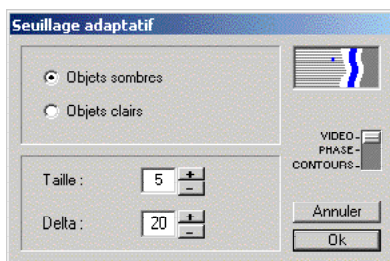
Le résultat de l'opération de seuillage apparaît si l'on clique sur le bouton "Phase" (superposition d'un masque aux parties seuillées de l'image) ou sur le bouton "Contours" (les parties seuillées sont entourées).

Si la détection effectuée n'est pas satisfaisante, il y a plusieurs façons de l'ajuster :

- Si la mesure du champ a "raté" des éléments de la structure en cours d'analyse : augmenter la tolérance; si des éléments ont été indûment affectés à la structure, diminuer la tolérance.
- Si le réglage n'est toujours pas satisfaisant, il est possible de modifier les seuils haut et bas de l'échelle des gris en cliquant dans la barre de réglage jusqu'à amener le seuil à la valeur souhaitée.

### Réglage du seuillage adaptatif

Cette méthode se règle avec la boîte de dialogue suivante :



*Réglage du seuillage adaptatif*

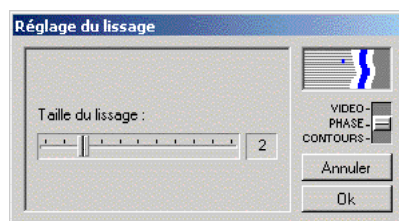
On y indique :

- la teinte générale des objets,
- un paramètre de taille qui correspond au rayon (en pixel) des plus grands objets à détecter,
- la variation de teinte minimale à prendre en compte entre les objets et le fond de l'image.

Comme dans le cas précédent, le résultat de l'opération de seuillage apparaît si l'on clique sur le bouton "Phase" (superposition d'un masque aux parties seuillées de l'image) ou sur le bouton "Contours" (les parties seuillées sont entourées).

### Réglage du lissage

La boîte de réglage du lissage se présente comme suit :



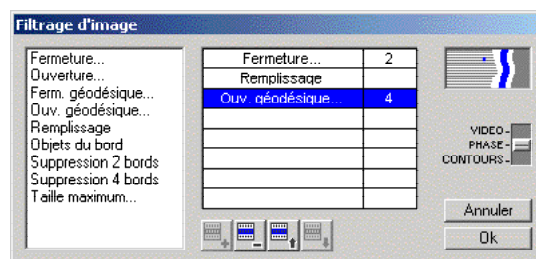
*Réglage du lissage*

Si des petits objets non significatifs "parasitent" la mesure : augmenter le lissage; si des éléments distincts d'une structure sont assimilés, le réduire.

Le résultat de l'opération de seuillage apparaît si l'on clique sur le bouton "Phase" (superposition d'un masque aux parties seuillées de l'image) ou sur le bouton "Contours" (les parties seuillées sont entourées).

### Définition d'une macro

Une "macro" est une succession de transformations d'image judicieusement agencées : elle se définit dans la fenêtre suivante :



*Définition d'une séquence*

La boîte de dialogue qui apparaît propose, à gauche, la liste des transformations qu'il est possible

d'appliquer à l'image. En voici une rapide description :

- fermeture : bouchage des trous avec lissage des contours.
- ouverture : suppression des petits artefacts avec lissage des contours.
- fermeture géodésique : bouchage de trous en préservant les contours.
- ouverture géodésique : suppression des petits artefacts en préservant les contours.
- remplissage : remplissage de tous les trous, quelle que soit leur taille, en préservant les contours.
- objets du bord : suppression des objets entièrement contenus dans le champ.
- suppression 2 bords : suppression des objets coupant le bord haut ou gauche du champ.
- suppression 4 bords : suppression de tous les objets coupant l'un des bords du champ.
- taille maximum : suppression des objets de taille supérieure au paramètre indiqué, en préservant les contours.

La liste de droite est la séquence, formée de quelques-unes de ces transformations. Pour y inclure une transformation, procéder de la façon suivante :

- presser dans la zone de gauche sur la transformation désirée puis presser le bouton "+" (ou double-cliquer simplement dans la zone de gauche sur la transformation désirée) : la transformation se place en fin de liste.
- presser sur les boutons marqués d'une flèche pour déplacer la transformation vers l'emplacement voulu.
- si la transformation l'exige, indiquer la taille puis valider par la touche <Entrée>.

Les effets de la séquence sur l'image peuvent être visualisés en positionnant le commutateur situé à droite sur "Phase" ou "Contours".

### **Choix de la séparation**

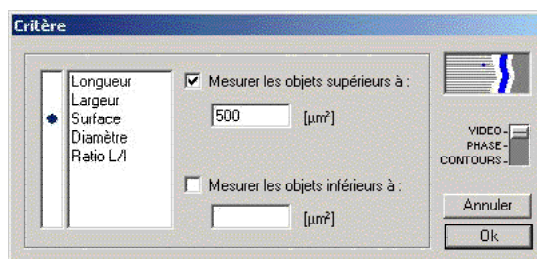
La séparation est utile pour les structures où un dénombrement des objets est effectué (comptage ou mesure d'objet). Elle permet dans une certaine mesure de considérer des objets apparaissant agglomérés comme des objets distincts.

Trois méthodes automatiques de séparation sont proposées :

- rapide pour séparer uniquement les gros objets;
- standard pour séparer les objets de taille moyenne;
- fine pour séparer des petits objets.

### **Réglage du critère**

Il est possible de conclure la détection par un tri selon l'une des mesures effectuées, à l'aide de la boîte de dialogue suivante :



On y indique une taille mini et/ou maxi pour les objets détectés.

Les effets de la séquence sur l'image peuvent être visualisés en positionnant le commutateur situé à droite sur "Phase" ou "Contours".

### Application d'une mire permanente

Une "mire permanente" est un ensemble de contours qui restent affichés en permanence. Ces contours doivent être définis dans une structure déclarée de type "Mire permanente" :



Ces contours servent de zone de référence aux mesures prises dans d'autres structures si la "zone de mesure" définie dans la fenêtre de "Nouvelle étude" correspond à cette mire.

Les contours de la mires sont créés à l'aide des outils de tracés (leur utilisation est détaillée au chapitre 4.) Ils ne sont pas effacés quand on commence une nouvelle étude (pour les effacer, utiliser l'article "Effacer les mires permanentes" du menu "Mesure"). Ils sont restaurés au démarrage du logiciel.

### Définition de l'exploration

Lorsque le système est équipé d'une platine motorisée, l'analyse de l'échantillon est entièrement automatique. Il faut alors définir la forme et la taille de cet échantillon.

On utilise pour cela le cadre supérieur de la boîte de dialogue ci-dessous (article "Définir l'exploration..." du menu "Mesure") :

**Définition de l'exploration**

**Echantillon**

☒ Rectangulaire Longueur : 67.4 mm Largeur : 44.9 mm

☐ Circulaire Diamètre : 67.40 mm

**Exploration**

☒ Horizontale ☐ Verticale ☐ En spirale

☒ Inclure les champs périphériques

☐ Parcours aléatoire

Choisir [ ] champs parmi 42

**Disposition des champs**

☒ Champs jointifs

☐ Pas horizontal : 10.61 mm

☐ Pas vertical : 7.933 mm

Annuler Ok

La zone ainsi définie peut être explorée de plusieurs façons différentes, grâce aux options des deux autres cadres. On peut par exemple définir une exploration exhaustive de l'échantillon (cocher les cases "Inclure les champs périphériques" et "Champs jointifs"), ou bien préférer une analyse plus rapide (en définissant des champs disjoints, ou en laissant le système choisir des champs de façon aléatoire).

La zone à analyser est représentée dans la page "Exploration". On peut ajuster sa taille et sa position avec la souris

## Enregistrement d'une étude

Durant la prise des mesures, il est recommandé de procéder à l'enregistrement régulier des valeurs mesurées. On utilise pour cela l'article "Enregistrer l'étude" du menu "Fichier".

La première fois, cet article provoque l'affichage de la boîte de dialogue standard de Windows, dans laquelle on indique un répertoire et un nom du fichier qui identifie l'étude (le suffixe ".h1b" y est automatiquement ajouté). Ce nom apparaît ensuite dans la barre d'outils d'Histolab.

Lors des enregistrements suivants, le même fichier est utilisé, à moins que l'on en change explicitement par l'article "Enregistrer sous...".



## Modèles et fichiers enregistrés

Il peut être utile de définir des modèles d'études, conservant notamment la définition des structures et les réglages de leur détection. Pour ce faire, on enregistre les informations préparées dans un fichier, grâce à l'article "Enregistrer l'étude".

Pour exploiter ce modèle :

- ouvrir le fichier avec l'article "Ouvrir une étude..." (menu "Fichier") : ceci restaure les structures définies.
- Saisir les caractéristiques propres à la nouvelle étude avec l'article correspondant du menu "Mesure".
- Définir un nouveau fichier avec l'article "Enregistrer l'étude sous..." du menu "Fichier".

Remarque : les fichiers modèles peuvent être protégés de tout remplacement accidentel : avec l'explorateur de Windows, afficher les propriétés du fichier, et cocher la case "Lecture seule".

## 4. Analyse d'une lame

Les caractéristiques de l'étude ont été définies, l'étalonnage du système est vérifié, l'image de la (ou des) coupe est correcte à l'écran : tout est prêt pour les mesures. Elles sont prises champ par champ, puis en principe, structure par structure.

### Prévisualisation de la lame avec une platine motorisée

Si le système est équipé d'une platine de déplacement motorisée, il est possible d'effectuer une prévisualisation de la lame avant l'analyse proprement dite afin de repérer les zones d'intérêt dans la vue d'ensemble.

Pour ce faire,

- Choisir un objectif à faible grandissement sur le microscope et sélectionner l'étalonnage correspondant dans la liste des étalonnages du menu "Mesure", puis
- Positionner la zone d'exploration autour de la coupe de tissu à analyser (en déplaçant et redimensionnant sa représentation dans la page "Exploration"), et
- Sélectionner l'article "Acquérir la prévisualisation" du menu "Mesure". Le système construit alors une image de toute la zone d'exploration.
- Revenir à l'objectif souhaité pour l'analyse et sélectionner l'étalonnage correspondant dans la liste.

### Tracé d'une zone de référence

Si, lors de la définition de l'étude, une structure a été définie comme zone de référence, on souhaite généralement la tracer avant toute autre mesure. Sélectionner cette structure dans le menu local de la barre d'outils (ou dans la liste des "Structures" du menu "Mesure").



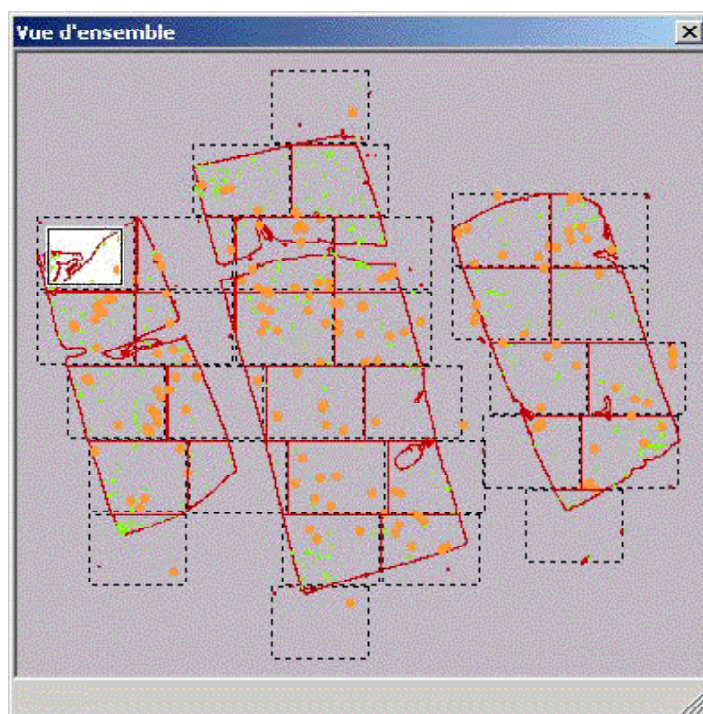
Ceci fait, sélectionner l'outil de tracé libre en pressant le bouton correspondant de la barre

d'outils (ou en sélectionnant l'article "Contours" de la liste des "Outils" du menu "Mesure").

Ensuite, parcourir l'échantillon et pointer autant de points que nécessaire pour décrire le bord de coupe avec la précision désirée. Cependant, plus le nombre de points du profil tracé est important, plus longue sera l'analyse de chaque champ, un test d'inclusion de chaque mesure à l'intérieur du profil étant réalisé.

## Repositionnement d'un échantillon

Pour replacer un échantillon sous une zone de référence, afficher la vue d'ensemble (sélectionner la page "Exploration" ou afficher la palette en pressant la touche <F12> ou par le menu "Résultats").



*Vue d'ensemble*

Repérer un détail caractéristique du tracé, déplacer la coupe jusqu'à ce que le détail soit dans le champ vidéo (c'est-à-dire jusqu'à ce que la rectangle blanc symbolisant le champ vidéo dans la vue d'ensemble et le détail en question soient superposés), puis refermer la vue d'ensemble (<F12>), afficher la page "Vidéo" et



presser ce bouton (ou sélectionner l'article "Débrayer les platines" du menu "Mesure") pour ne plus asservir les tracés à la position de la platine du microscope; puis déplacer la platine jusqu'à ce que le détail repéré soit superposé au tissu correspondant. Presser ce bouton à nouveau pour retrouver l'asservissement de positions.

## Sélection de la structure

Il existe trois méthodes de sélection de la structure :

- Dans le menu "Mesure", l'article "Structures" mène à un sous-menu contenant le nom des structures définies : il suffit de sélectionner la structure voulue, qui devient cochée.
- Le nom de la structure actuellement sélectionnée est affiché dans la barre d'outils. Il s'agit d'un menu déroulant : presser dessus fait apparaître les autres structures.
- Pendant les mesures, un moyen plus rapide permet de passer d'une structure à la suivante : l'article "Structure suivante" du menu "Mesure", et surtout son raccourci clavier, la touche <F4>.

A chaque structure est associée une couleur, utilisée pour tracer les relevés. Cette couleur apparaît notamment dans la barre d'outil, dans le menu déroulant. Pour changer la couleur d'une structure, on utilise l'article "Couleurs de tracés..." du menu "Présentation".

## Utilisation des outils de mesure

Selon les types de structures choisis, des outils de mesures manuels ou automatiques sont proposés. Les outils manuels sont directement utilisables tandis que les outils automatiques doivent avoir été réglés au moins en début d'analyse d'une coupe.

La sélection d'un outil de mesure se fait par l'un des moyens suivants :

- L'article "Outils" du menu "Mesure" ouvre un sous-menu, contenant la liste des outils. L'outil choisi est coché.
- Si la barre d'outils est affichée, chaque outil est symbolisé par un bouton. Celui de l'outil sélectionné paraît enfoncé (il peut arriver, en début d'étude, qu'aucun bouton ne soit enfoncé). La plupart des outils s'utilisent avec la souris, en procédant à une séquence d'actions du type <presser>, <déplacer>, <relâcher>, chaque action servant à relever un point particulier soit de la zone sélectionnée dans l'image vidéo, soit de la figure tracée. Aucune différenciation n'est faite entre les boutons de la souris.

Aucune touche spéciale du clavier n'est utilisée, à une exception près : les touches <Maj> + <F5> pour une analyse automatique de tout le champ vidéo et la touche <F5> pour une détection automatique d'une structure dans tout le champ vidéo.

L'utilisation de chaque outil est présentée ci-dessous. Les mesures que l'outil sait prendre sont rappelées.



Double filet à papillons (raccourci : <F5>) : mesure automatique du champ vidéo

- Mesures prises : coordonnées, longueur, largeur, diamètre équivalent, périmètre, surface.
- Principe : applique successivement au champ vidéo les réglages définis pour chacune des structures détectées automatiquement.



Filet à papillons : mesure automatique de la structure sélectionnée champ vidéo

- Mesures prises : coordonnées, longueur, largeur, diamètre équivalent, périmètre, surface.
- Principe : applique au champ vidéo les réglages définis dans la boîte de “Réglage de la détection” pour la structure sélectionnée.



Baguette magique : mesure automatique d'une zone du champ vidéo

- Mesures prises : coordonnées, longueur, largeur, diamètre équivalent, périmètre, surface, intensité lumineuse.
- Fonctionnement : presser à deux extrémités de la zone d'intérêt. Cette zone est alors automatiquement analysée suivant les réglages définis.



Contours libres et polygones

- Mesures prises : coordonnées, longueur, largeur, diamètre équivalent, périmètre, surface.
- Tracé : presser puis déplacer la souris autant de fois que nécessaire pour décrire la forme à mesurer. Double-cliquer pour refermer le contour et ainsi signifier la fin de la mesure. Le contour est lissé par Histolab.



Compteur

- Mesures prises : coordonnées.
- Tracé : presser à l'emplacement du point à marquer.

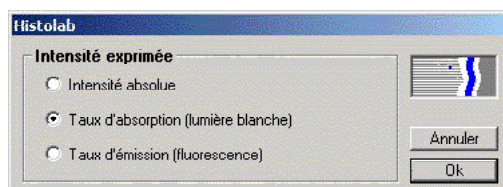


Segment, ligne courbe et ligne brisée

- Mesures prises : coordonnées, longueur.
- Tracé : presser aux deux extrémités du segment à tracer; pour les lignes courbe ou brisée, presser autant de points que nécessaire pour décrire la longueur à mesurer.

## La mesure d'intensité

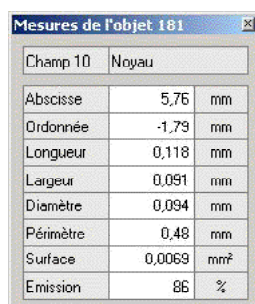
Pour les structures de type “objets”, une mesure supplémentaire est effectuée : l'intensité lumineuse de chacun des objets détectés ou tracés. Elle s'exprime de différentes façons, suivant le choix effectué dans la boîte qui s'affiche par l'article “Intensité exprimée” du menu “Résultats” :



- L'intensité absolue est une valeur entre 0 et 255 correspondant à la valeur moyenne des niveaux de gris d'un objet.
- Pour une image provenant d'un échantillon éclairé en lumière blanche (éclairage en transmission), il peut être plus intéressant d'exprimer le taux d'absorption de lumière de chacun des objets détectés (par exemple pour analyser l'intensité d'un marquage par le BRDU sur une coupe histologique). Avant les mesures, il faut dans ce cas indiquer au système une référence lumineuse correspondant à 100% de lumière transmise (soit 0% d'absorption). Pour cela, sélectionner l'article “Mesurer l'intensité du fond” du menu “Mesure” et presser dans une zone de l'image où toute la lumière est transmise.
- En fluorescence, la source lumineuse sert à exciter des marqueurs fluorescents dans des longueurs d'ondes spécifiques. C'est alors le taux d'émission de chacun des objets fluorescents par rapport à l'intensité du fond (sombre) qui est caractéristique de l'intensité du marquage. Avant les mesures, il faut dans ce cas indiquer au système une référence lumineuse correspondant à 0% de lumière émise. Pour cela, sélectionner l'article “Mesurer l'intensité du fond” du menu “Mesure” et presser dans une zone de l'image où rien ne fluoresce.

## Contrôle des mesures

Les dernières valeurs mesurées peuvent être affichées dans une petite fenêtre, superposée à la feuille de travail (article “Résultats de la mesure...” du menu “Résultats”).



Mesures de l'objet 181		
Champ 10	Noyau	
Abscisse	5,76	mm
Ordonnée	-1,79	mm
Longueur	0,118	mm
Largeur	0,091	mm
Diamètre	0,094	mm
Périmètre	0,48	mm
Surface	0,0069	mm²
Emission	86	%

## Correction des erreurs

En cas d'erreur lors d'un tracé ou d'une mesure automatique, plusieurs remèdes existent :

- Le dernier tracé (ou la dernière mesure) effectué peut être simplement annulé, par la fonction correspondante du menu "Edition".



Cet outil permet de sélectionner un tracé... L'article "Supprimer" du menu "Edition" supprime le tracé sélectionné. Si le tracé comporte des poignées, il est possible de le reprendre en cliquant sur une des poignées et, le bouton de la souris restant pressé, l'amener jusqu'à l'endroit désiré.

- Une mesure de la coupe en cours d'analyse peut être effacée en supprimant la ligne correspondante dans le tableau de résultat.

Il est recommandé de procéder à un enregistrement régulier de l'étude en cours. Ainsi, en cas de fausse manipulation passée d'abord inaperçue, et qui ne peut donc plus être annulée, il reste possible de rouvrir ce fichier, par l'article correspondant du menu "Fichier".

## Valider un champ mesuré



Presser ce bouton (ou sélectionner l'article "Valider le champ" du menu "Mesure") pour valider les mesures déjà effectuées et procéder à l'analyse d'un nouveau champ. Déplacer ensuite la coupe sur son support jusqu'à ce que le nouveau champ à analyser soit entièrement affiché dans l'image vidéo.



Ce bouton permet de revenir sur un champ mesuré précédemment.

**Nota Bene** : lorsque le microscope est équipé d'une platine de déplacement indexée, connectée à l'ordinateur, ces boutons sont dévalidés : il suffit de déplacer la platine pour mesurer un nouveau champ, ou revenir sur un champ déjà mesuré. Lorsqu'il est équipé d'une platine de déplacement motorisée, ces boutons permettent de passer d'un champ à l'autre.

## Mesure automatique de l'échantillon avec une platine motorisée



Déplacer l'échantillon vers le coin supérieur gauche du rectangle à analyser (ou le sommet du cercle), et presser ce bouton : il définit la position du premier champ de l'exploration.

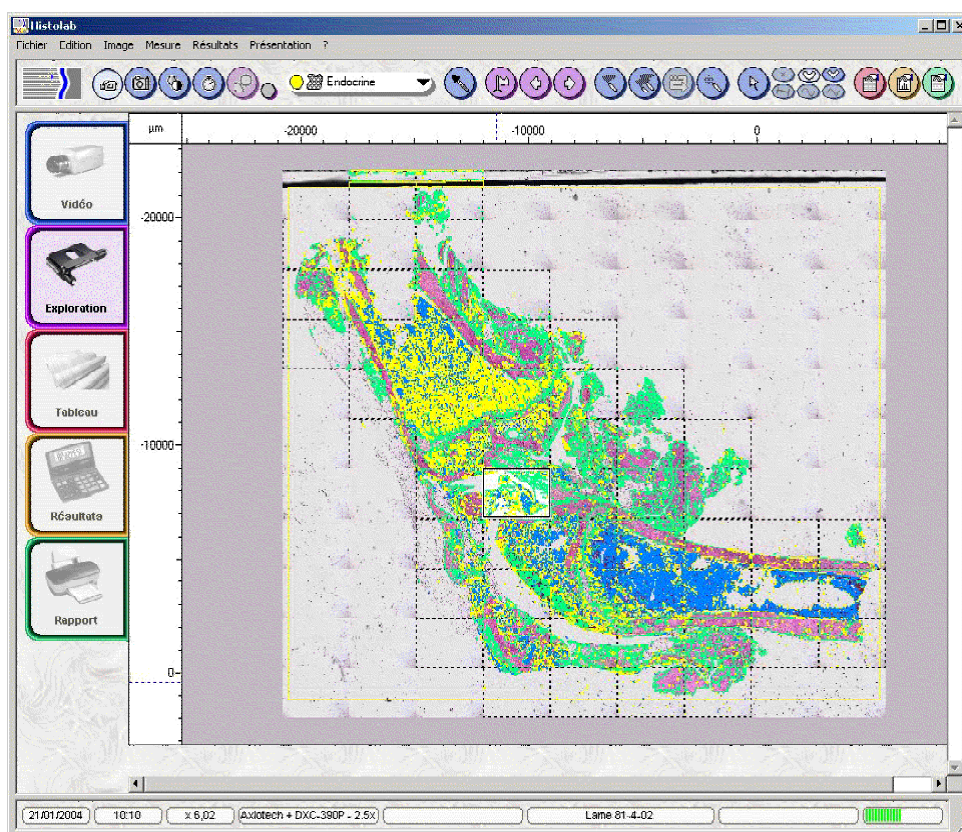


Presser ce bouton : l'exploration automatique commence.



## 5. Vue d'ensemble de la coupe

La vue d'ensemble s'affiche quand on sélectionne l'onglet "Exploration".



La vue d'ensemble présente un historique des champs analysés.



Les tracés correspondants aux mesures effectuées dans chaque champ pour toutes les structures définies sont représentés en réduction (le grandissement de la vue d'ensemble s'affiche dans la barre d'état située au bas de la fenêtre).

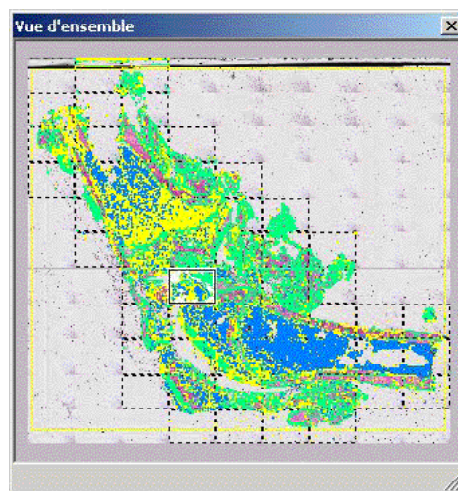
Les images des champs sont également affichées si l'option "Conserver les images des champs mesurés" a été activée au démarrage de l'étude.

Lorsque le système est équipé d'une platine qui transmet sa position au micro-ordinateur (platine indexée ou motorisée), l'historique est remplacé par une cartographie de la coupe.

Si la platine est motorisée, la prévisualisation éventuellement acquise est affichée ici, de même que la zone de l'exploration. Cette dernière peut être déplacée et déformée à l'aide de la souris, afin d'être ajustée à la zone d'intérêt sur la coupe de tissu.

Le champ encadré est le champ "actif", dont les données sont également affichées dans la page "Vidéo". Pour changer de champ actif, utiliser les options "Champ précédent" et "Champ suivant" du menu "Mesure", ou presser sur le champ désiré tout en pressant simultanément les touches <Majusc> et <Ctrl> du clavier.

La vue d'ensemble peut être affichée dans une fenêtre distincte, et ainsi rester visible même lorsque l'on travaille sur les autres pages d'Histolab : on utilise pour cela l'option "Afficher dans une fenêtre" du menu "Résultats", ou son raccourci clavier, la touche <F12>.



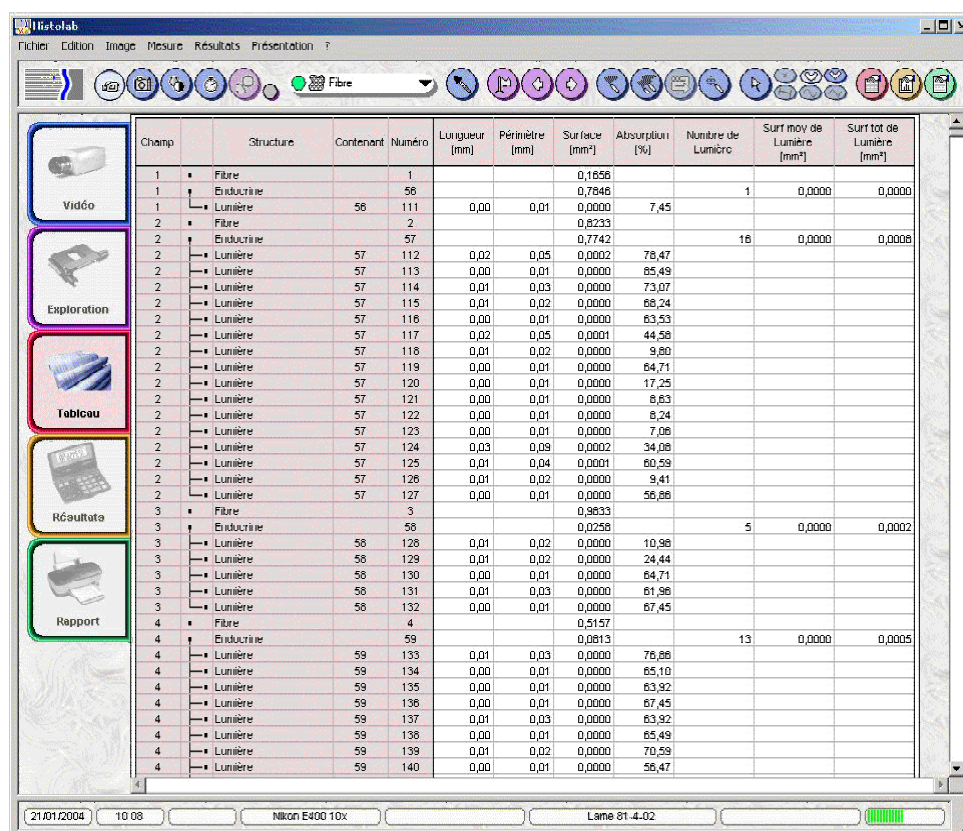
*Affichage de la vue d'ensemble dans une palette*

## Exportation

- Transformation de la vue d'ensemble en une image unique : activer l'outil "Encadrer" du menu "Édition", puis encadrer la zone voulue. L'option "Copier" permet de transférer la partie encadrée vers un autre logiciel.
- Enregistrement individuel des images mesurées : dans le menu "Fichier", utiliser l'option "Exporter", puis le sous-menu "Images mesurées".

## 6. Tableau des mesures

Pendant l'analyse des champs, Histolab construit une table regroupant les valeurs mesurées. Le tableau s'affiche en sélectionnant l'onglet correspondant.



Champ	Structure	Contenant	Numéro	Longueur (mm)	Périmètre (mm)	Surface (mm²)	Absorption (%)	Nombre de Lumière	Surf moy de Lumière (mm²)	Surf tot de Lumière (mm²)
1	Fibre		1			0,1656				
1	Enductive	56	56			0,7846		1	0,0000	0,0000
1	Lumière	56	111	0,00	0,01	0,0000	7,45			
2	Fibre		2			0,8233				
2	Enductive	57	57			0,7742		16	0,0000	0,0008
2	Lumière	57	112	0,02	0,05	0,0002	78,47			
2	Lumière	57	113	0,00	0,01	0,0000	85,49			
2	Lumière	57	114	0,01	0,03	0,0000	73,07			
2	Lumière	57	115	0,01	0,02	0,0000	68,24			
2	Lumière	57	116	0,00	0,01	0,0000	63,53			
2	Lumière	57	117	0,02	0,05	0,0001	44,58			
2	Lumière	57	118	0,01	0,02	0,0000	9,80			
2	Lumière	57	119	0,00	0,01	0,0000	64,71			
2	Lumière	57	120	0,00	0,01	0,0000	17,25			
2	Lumière	57	121	0,00	0,01	0,0000	8,83			
2	Lumière	57	122	0,00	0,01	0,0000	8,24			
2	Lumière	57	123	0,00	0,01	0,0000	7,06			
2	Lumière	57	124	0,03	0,09	0,0002	34,08			
2	Lumière	57	125	0,01	0,04	0,0001	60,59			
2	Lumière	57	126	0,01	0,02	0,0000	9,41			
2	Lumière	57	127	0,00	0,01	0,0000	56,86			
3	Fibre		3			0,9833				
3	Enductive	56	58			0,0258		5	0,0000	0,0002
3	Lumière	56	128	0,01	0,02	0,0000	10,98			
3	Lumière	56	129	0,01	0,02	0,0000	24,44			
3	Lumière	56	130	0,00	0,01	0,0000	64,71			
3	Lumière	56	131	0,01	0,03	0,0000	61,96			
3	Lumière	56	132	0,00	0,01	0,0000	67,45			
4	Fibre		4			0,5157				
4	Enductive	59	59			0,0813		13	0,0000	0,0005
4	Lumière	59	133	0,01	0,03	0,0000	76,86			
4	Lumière	59	134	0,00	0,01	0,0000	65,10			
4	Lumière	59	135	0,00	0,01	0,0000	63,92			
4	Lumière	59	136	0,00	0,01	0,0000	67,45			
4	Lumière	59	137	0,01	0,03	0,0000	63,92			
4	Lumière	59	138	0,00	0,01	0,0000	65,49			
4	Lumière	59	139	0,01	0,02	0,0000	70,59			
4	Lumière	59	140	0,00	0,01	0,0000	56,47			

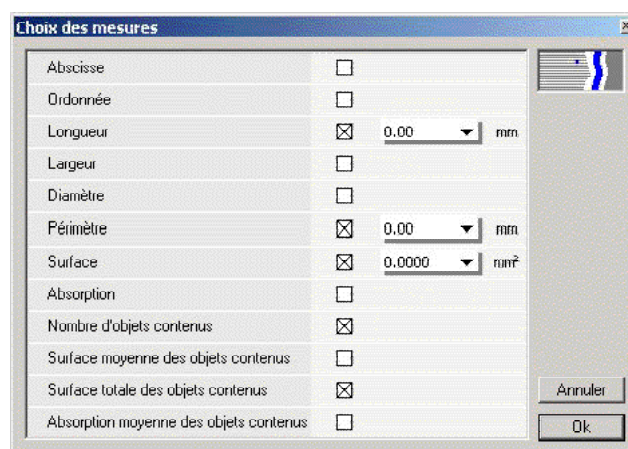
## Organisation du tableau

Chaque objet occupe une ligne, et est décrit par le numéro du champ d'analyse, le nom de la structure à laquelle il appartient, puis par le résultat des mesures prises.

### Choix des mesures affichées



Les mesures affichées peuvent être choisies en pressant ce bouton ou par l'article correspondant du menu "Résultats".

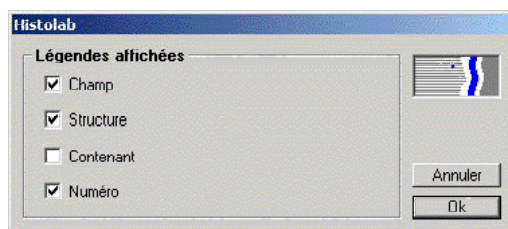


*Choix des mesures affichées*

C'est également dans cette fenêtre que l'on peut choisir la précision d'une mesure, en cliquant sur le menu déroulant correspondant à celle-ci.

Pour les structures servant de zone de mesures à une ou d'autres structures, il peut être intéressant d'afficher des informations supplémentaires relatives aux objets contenus. Histolab a prévu d'indiquer le nombre, la surface moyenne, la surface totale et l'intensité moyenne des objets contenus.

Réciproquement, il est possible de retrouver le contenant d'un objet du tableau par son numéro affiché dans les cellules de légende du tableau. Pour cela, il faut que l'article correspondant de la fenêtre "Légendes affichées" (accessible via le menu "Résultats") soit coché :



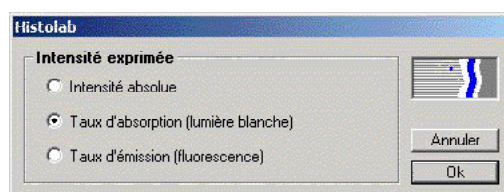
*Choix des légendes affichées.*

## Regroupement des objets

Histolab a prévu deux modes de regroupement des objets tracés ou détectés. Selon l'article coché dans le menu "Résultats", les objets sont regroupés par structure (ce qui est pratique pour comparer les mesures de plusieurs objets d'une même structure) ou par zone de mesure (ce qui est utile pour rapprocher les mesures d'un objet de celles de son contenant).

## Intensité exprimée

Pour choisir l'intensité exprimée, afficher la fenêtre suivante via le menu "Mesure" :



Choisir :

- "Intensité absolue" pour afficher la valeur moyenne des niveaux de gris d'un objet.
- "Taux d'absorption" pour analyser l'intensité d'un marquage sur une coupe histologique éclairée en transmission (lumière blanche).
- "Taux d'émission" pour analyser l'intensité d'un marquage sur une coupe histologique fluorescente.

## Exportation

L'exportation des résultats consiste à mettre en forme les résultats obtenus par Histolab pour qu'ils soient exploitables par des logiciels extérieurs (en général des tableurs). Deux techniques sont proposées :

- par le presse-papiers : sélectionner le bloc de cellules. Lorsqu'il est coloré, sélectionner l'option "Copier" du menu "Édition". Activer le logiciel de destination, et coller à l'emplacement voulu.

Pour sélectionner des lignes entières, presser et glisser dans les colonnes de légende. Pour sélectionner des colonnes entières, presser et déplacer dans les lignes d'en-tête. Pour sélectionner le tableau entier, presser dans le coin supérieur gauche du tableau.

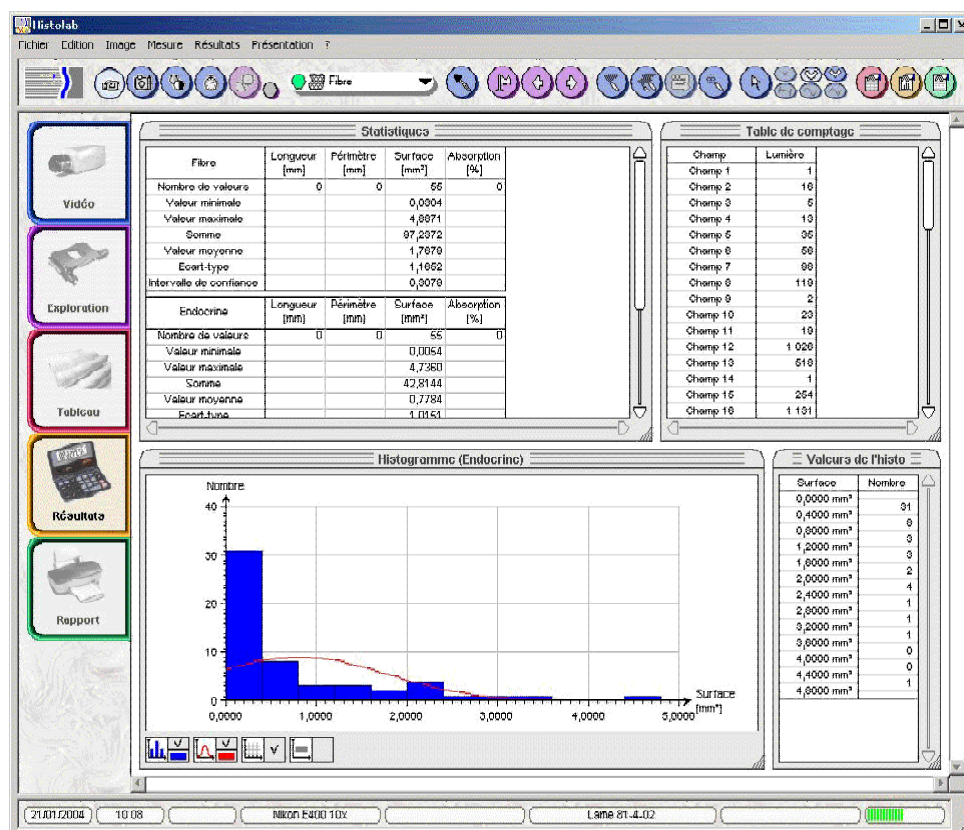
- par un fichier au format "texte" : dans le menu "Fichier", utiliser le sous-menu "Exporter", puis l'article "Table de mesures...".

**REMARQUE IMPORTANTE** : l'exportation ne doit pas être confondue avec l'enregistrement d'une étude. Un fichier d'étude contient les mesures et leur environnement, mais ne peut être lu que par Histolab. Un fichier exporté ne contient que les valeurs, mais peut être lu par un autre logiciel. Il est toujours préférable d'enregistrer l'étude, car on peut ensuite en extraire les valeurs pour les exporter, alors que l'inverse est impossible.



## 7. Statistiques et représentation graphique

Outre le tableau de mesure présenté précédemment, Histolab propose quatre documents, dans sa page “Résultats” : la table des statistiques, la table de comptage, un histogramme “en barres”, et les valeurs numériques associées au graphique.



## Les statistiques

La table des statistiques regroupe les mesures effectuées par structure. Elle peut rester affichée en permanence, si l'article "Statistiques" du sous-menu "Afficher dans une fenêtre" du menu "Résultats" est coché.

## La table de comptage

La table de comptage affiche champ par champ les résultats des dénombrements effectués pour chaque structure au cours d'une étude. Des statistiques sur ces dénombrements sont affichés en fin de tableau. Cette table est mise à jour en permanence au cours de l'analyse d'une coupe de tissu.

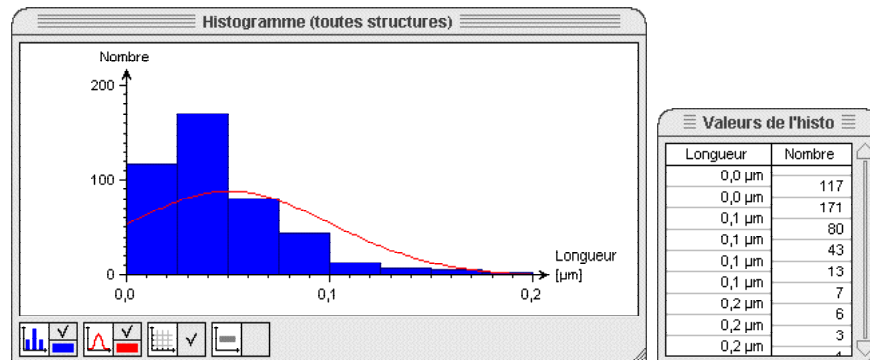
Elle peut également rester affichée en permanence, si l'article "Statistiques" du sous-menu "Afficher dans une fenêtre" du menu "Résultats" est coché :

Champ	Objets	Structure 2	Compteur
Champ 1	13	0	3
Champ 2	10	0	3
Champ 3	11	0	5
Champ 4	26	0	10
Champ 5	22	0	11
Champ 6	5	0	6
Champ 7	15	0	6
Champ 8	26	0	1
Champ 9	6	0	0
Champ 10	44	0	4
Champ 11	24	0	16
Champ 12	22	0	16
Champ 13	4	0	7
Champ 14	6	0	8
Champ 15	22	0	3
Champ 16	30	0	3
Champ 17	22	0	6
Champ 18	9	0	12
Champ 19	5	0	2
Champ 20	8	0	3
Champ 21	7	0	9
Champ 22	12	0	8
Champ 23	15	0	11
Champ 24	12	0	1
Champ 25	13	0	5
Champ 26	11	0	5
Champ 27	6	0	11
Champ 28	22	0	10
Champ 29	2	0	5
Champ 30	9	0	0
Champ 31	3	0	1
Champ 32	3	0	2
Total	445	0	193
Moyenne	13,9	0	6,03
Int. de confiance	3,29	0	1,49

## L'histogramme d'une mesure

Une mesure particulière (longueur, largeur, diamètre, périmètre, surface ou intensité) peut être analysée individuellement grâce à un histogramme : il faut définir des classes de taille pour la mesure considérée et choisir quelle structure entre dans cet histogramme. Cet histogramme se présente sous forme de graphique "en barres", le nombre d'objets dans chaque classe pouvant également être affiché.





*L'histogramme de la longueur, toutes structures confondues, et les valeurs correspondantes*

Il est possible d'afficher la loi normale correspondant à la distribution de la mesure dans les classes définies en cochant l'option correspondante en bas de cette fenêtre.

D'autres options de tracé (couleur des barres et de la loi normale, quadrillage du graphique, épaisseur de la courbe) se choisissent également sous l'histogramme.



Le choix de la structure, celui de la mesure ainsi que les limites des classes de taille se définissent en cliquant sur ce bouton (ou par l'article "Propriétés de l'histogramme" du menu "Mesure"). La boîte de dialogue suivante apparaît :

**Propriétés de l'histogramme**

Structures : Toutes les structures

Axe horizontal : Longueur

Minimum : 0,000 mm Auto ☒

Maximum : 0,000 mm Auto ☒

Intervalle : 0,000 mm Auto ☒

Axe vertical : Nombre

Minimum : 0 Auto ☒

Maximum : 0 Auto ☒

Annuler Ok

En cochant les cases "Auto", il est possible de laisser Histolab ajuster au mieux chacun des paramètres.

## Exportation

- vers un logiciel de présentation, par le presse-papiers : dans la feuille de travail, presser sur la barre de titre du document voulu. Lorsque le cadre est coloré, sélectionner l'option "Copier" du

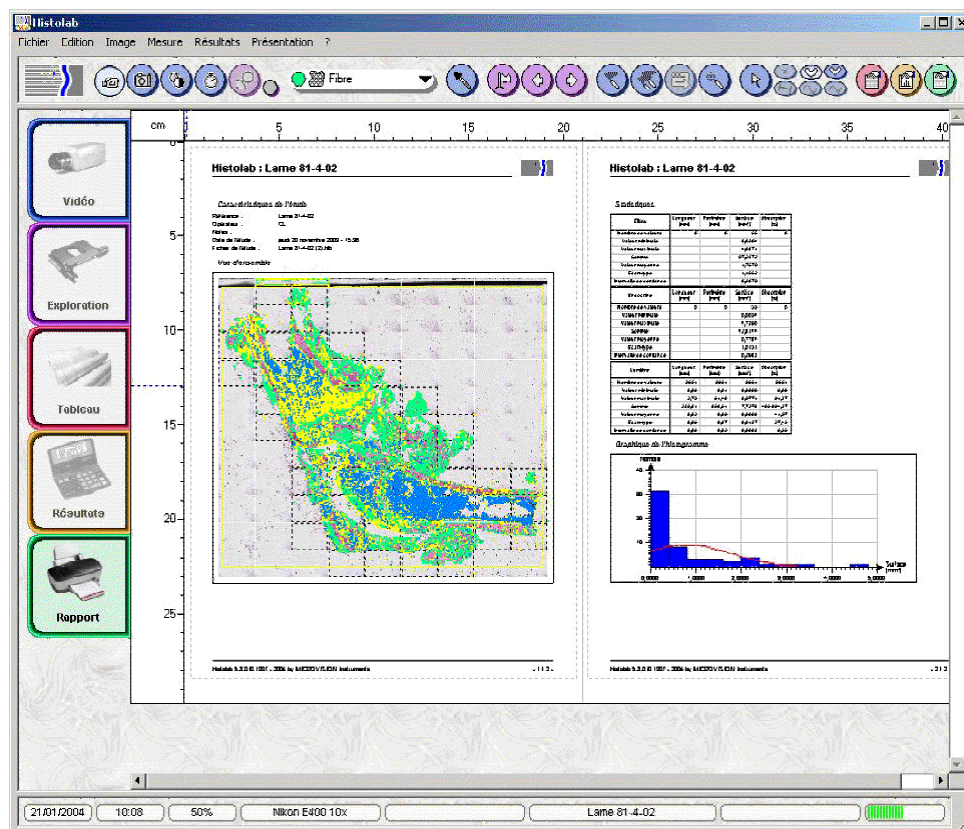


menu “Édition”. Activer le logiciel de destination, et coller à l’emplacement voulu.

- vers un tableur, par un fichier au format “texte” : dans le menu “Fichier”, utiliser le sous-menu “Exporter”, puis l’article “Le comptage...” ou “Les statistiques...”.

## 8. Mise en page et impression du rapport

La page “Rapport” présente le rapport de mesures exactement tel qu’il va être imprimé :



La mise en page de ce document est entièrement personnalisable : taille et contenu de l’en-tête et du pied de page, ordre et intitulé des documents imprimés. On y accède en

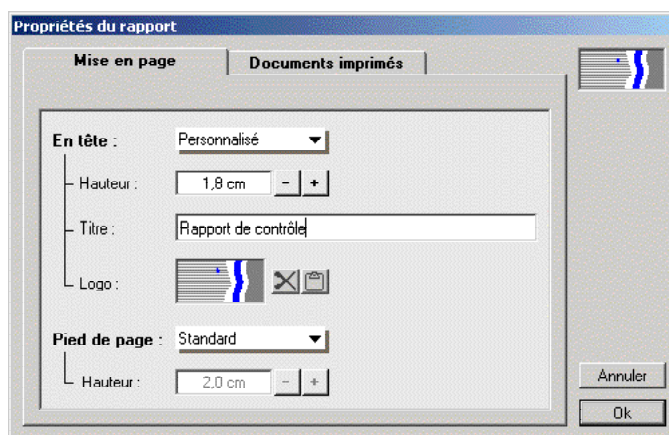


pressant ce bouton ou par l'article "Propriétés du rapport...", proposé par le menu "Résultats".

Trois types d'en-tête sont proposés par le premier onglet :

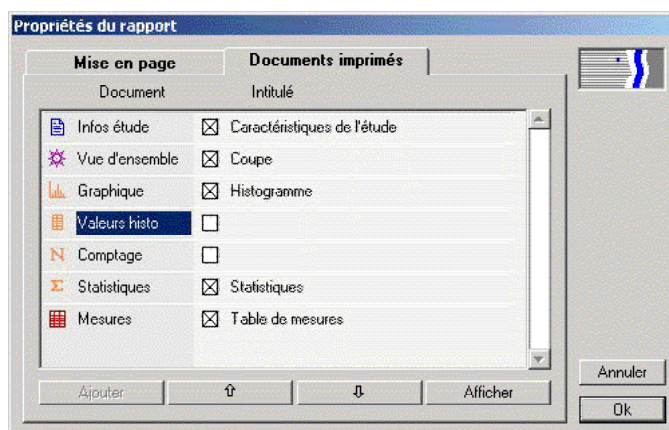
- une en-tête standard, sans réglage, qui inclut automatiquement le nom du logiciel, suivi de la référence de l'étude.
- une en-tête personnalisée, dont on peut définir la hauteur, le titre et un logo, que l'on aura préalablement placé dans le presse-papiers.
- une en-tête vide, pour imprimer le rapport sur du papier pré-imprimé. On ne règle alors que la hauteur de l'espace à laisser libre.

Le pied de page peut inclure la référence du logiciel et une numérotation de page, ou laisser vide une hauteur donnée, pour utiliser du papier pré-imprimé.



*Définition de l'en-tête et du pied de page*

Le second onglet sert à définir le contenu du rapport :



La liste présentée permet de choisir les documents à inclure au rapport, d'en fixer l'ordre et le titre. L'impression proprement dite se lance par l'article "Imprimer le rapport" du menu "Fichier".

## **Exportation au format PDF**

Si Adobe Distiller est installé sur le poste de travail, le rapport peut être exporté au format "PDF", ce qui permet de le revoir sur un poste ne disposant pas d'Histolab.

## 9. Modes de fonctionnement sécurisés

Dans le cadre d'une utilisation d'Histolab sur des lames de teintes très constantes, il peut être intéressant de figer les réglages effectués, pour éviter toute modification accidentelle. Histolab prévoit les trois modes de fonctionnement suivants :

- le mode “Administration” est le mode de travail normal, dans lequel toutes les fonctions du logiciel sont accessibles.
- le mode “Opérations” est un mode sécurisé, dans lequel toutes les opérations de routine sont possibles. Par contre, les réglages ne sont plus accessibles : ils restent identiques à ceux effectués en mode “Administration”.
- le mode “Supervision” est un mode sécurisé, dans lequel les réglages restent accessibles, mais sont consignés dans un fichier journal. Les accès aux fichiers sont restreints, et également consignés dans le fichier journal. Ce mode est défini par un composant logiciel distinct, vendu séparément.



*Les modes de fonctionnement, présentés dans le menu “?”*

L'article “Paramètres de sécurité...” permet à l’administrateur de définir le mode de démarrage du logiciel, et de protéger l’accès au mode “Administration” par un mot de passe.